

## **ZNANSTVENO IZVJEŠĆE**

### **O PRETPOSTAVLJENIM KONCENTRACIJAMA AFLATOKSINA M1 U MESU GOVEDA, SVINJA OVACA I KOZA**

#### **POZADINA SLUČAJA**

Dana 28. veljače Hrvatska agencija za hranu zaprimila je od Ministarstva poljoprivrede zahtjev u kojem se traži da se dostavi znanstveno mišljenje – procjena rizika vezano za najveće dopuštene količine (NDK) aflatoksina M1 u mesu goveda, ovaca, svinja i koza.

Uz spomenuti zahtjev nisu dostavljeni nikakvi dodatni podaci, odnosno rezultati ispitivanja hrane za životinje na prisutnost aflatoksina B1, kao ni rezultati analiza mesa na koncentraciju aflatoksina M1.

#### **SVRHA IZVJEŠĆA**

Temeljem podatka Njemačkog instituta za procjenu rizika (BfR) o kontaminaciji kukuruza koji je korišten kao hrana za životinje, pri čemu je ustanovljena koncentracija aflatoksina B1 od 200 µg/kg u kukuruzu uvezenom iz Srbije u Njemačku, te eksperimentalnih studija na životinjama koje su opisane u znanstvenim radovima, napravljena je linearna ekstrapolacija očekivane količine aflatoksina M1 u mišićnom tkivu i organima goveda i svinja.

Dana procjena temelji se na vrijednostima koje su veće od najvećih dopuštenih količina aflatoksina B1 u hrani za životinje (0,02 mg/kg), ali koje su moguće na temelju rezultata stvarno utvrđene koncentracije aflatoksina B1 u kukuruzu u Njemačkoj.

U skladu s koncentracijama koje su dozvoljene Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/12), za aflatoksine B1 i M1 u hrani, načinjen je pregled dosadašnjih istraživanja i modela izračuna, odnosno kvalitativna procjena utjecaja na zdravlje ljudi prilikom konzumiranja mesa goveda, ovaca, svinja i koza.

## UTJECAJ AFLATOKSINA B1 U KRMNIM SMJESAMA NA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA (GOVEDA, SVINJE)

Kod koncentracije aflatoksina u hrani od 0,2 mg/kg suhe tvari, u svinja se mogu javiti nespecifični klinički znakovi kao što su smanjen unos hrane, slabije postizanje tjelesne težine, depresija, probavni poremećaji, krvarenja, ascites i edem pluća, dok se akutne intoksikacije (oštećenja jetre) dešavaju kod koncentracije od 0,4 mg/kg suhe tvari (Bauer 2000).

Preživači se smatraju manje osjetljivim iz razloga što se u buragu odvija degradacija hrane kontaminirane s aflatoksinom B1. U krava samo koncentracija aflatoksina od 1,5 do 2,2 mg/kg suhe tvari rezultira s kliničkim simptomima (EC 2004), a u malih preživača tek kod koncentracije od 50 mg/kg suhe tvari (Miller i Wilson, 1994). Glavni klinički simptomi odnose se na oštećenja bubrega i jetre.

U izvješću Njemačkog instituta za procjenu rizika (BfR) navodi se da je laboratorijski utvrđena koncentracija aflatoksina B1 u kukuruza za hranidbu životinja iznosila 200 µg/kg. Ukoliko bi se obrok sastojao od 100% kukuruza, u svinja se mogu javiti nespecifični simptomi bolesti. Ako se udio kukuruza kreće od 40 do 60% u obroku, nije vjerojatno da će izmjerene koncentracije aflatoksina od 200 µg/kg imati utjecaja na zdravlje životinja.

### STUPANJ PRIJENOSA U MESO

Stupanj prijenosa u aflatoksina B1 (M1) u meso manje je značajan nego stupanj prijenosa u mlijeko. U eksperimentalnoj studiji na živim životinjama pokazano je kako aflatoksin nakon oralnog unosa iz hrane prvenstveno odlazi u jetru i bubrege, dok je mišićno tkivo kontaminirano s izuzetno malim koncentracijama (jetra/bubreg>>mišićno tkivo). Postoje dokazi da se aflatoksin u tkivima kovalentno veže za proteine i u tom slučaju nije raspoloživ kao biotoksin (vetpharm) (BfR, 2013.). Dva tjedna nakon prestanka hranjenja s kontaminiranom hranom, aflatoksin se više ne nalazi u tkivu.

Općenito, aflatoksini (B1 i M1) se mogu pronaći u jetri, bubrezima i jestivim dijelovima probavnog trakta. Aflatoksin nema sposobnost bioakumulacije u masnom tkivu.

### Goveda

Richard i sur. (1983) radili su pokus s bikovima koji je trajao 17, 5 tjedana tijekom kojeg je u hrani bilo 800 µg/kg aflatoksina B1 (što je 40 puta veća količina od dozvoljene Pravilnikom, 2010). Nakon klanja u jetri je utvrđena količina od 0,370 µg/kg aflatoksina B1 i 1,007 µg/kg aflatoksina M1, u bubrezima 0,090 µg/kg aflatoksina B1 i 4,820 µg/kg aflatoksina M1, u mišićju 0,002 µg/kg aflatoksina B1 i 0,115 µg/kg aflatoksina M1, u srčanom mišićju 0,004 µg/kg aflatoksina B1 i 0,140 µg/kg aflatoksina M1, u

plućima 0,014 µg/kg afaltoksina B1 i 0,290 µg/kg afaltoksina M1, u buragu 13,050 µg/kg afaltoksina B1 i 1,666 µg/kg afaltoksina M1. Količina afaltoksina M12 u jetri, bubrezima i mišićju pokazuje da u usporedbi sa slučajem kontaminacije koju je utvrdio BfR, a koja je 4 puta manja, ne dolazi do povećanja dozvoljene količine afaltoksina B1 od 2 µg/kg u hrani koja je propisana za sve žitarice i proizvode od žitarica, uključujući prerađene proizvode na bazi žitarica (Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/12)). Ova usporedba uzeta je iz razloga što se sukladno preporukama piramide zdrave prehrane žitarice konzumiraju u većoj količini od mesa.

Kod nekih je životinja 2 tjedna prije klanja, hrana zamijenjena s hranom u kojoj nije bilo afaltoksina. U jetri, bubrezima, mišićju, srčanom mišiću, plućima i buragu nije se moglo pronaći niti afaltoksin B1 ni M1.

Izračuni na temelju ovog modela (Richard i sur., 1983) uz varijacije koncentracija u hrani za životinje i uz linearnu ekstrapolaciju, izračunata je moguća koncentracija u mesu goveda.

Tablica 1: Primjer izračuna koncentracije afaltoksina M1 u organima i mišićnom tkivu goveda na temelju podataka eksperimenta na životinjama od Richards i sur. (1983)

Koncentracija u hrani za životinje [µg/kg]	Tkivo		
	Jetra	Bubrezi	Mišićje
	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]
800	1,007	4,82	0,115
Trajanje hranidbe: 17,5 tjedana			
200	0,251	1,21	0,028
150	0,189	0,90	0,021
100	0,125	0,60	0,014
50	0,063	0,30	0,007

Iz danih rezultata vidljivo je da prijelaz afaltoksina M1 u mišićno tkivo goveda vrlo mali. Niti jedna od navedenih koncentracija afaltoksina M1 (Tablica 1) nije dovela do povećanja ovog kontaminanta u mesu iznad maksimalno dozvoljene koncentracije u odnosu na vrijednosti propisane čak i za mlijeko. Treba naglasiti kako je u izračunima utemeljenim na ovom modelu nisu korištene stvarne količine hrane po životinji i danu, već samo duljina hranjenja s porcijama hrane s poznatom potencijalno kontaminiranom komponentom hrane.

## Svinje

U studiji Beaver i sur. (1990) tovljenici su 35 dana hranjeni s hranom u koju je bilo dodano 524 µg/kg aflatoksina B1. Nakon klanja utvrđeno je u jetri 1,479 µg/kg aflatoksina M1, u bubrezima 3,132 µg/kg aflatoksina M1, u mišićju 0,206 µg/kg aflatoksina M1 i u masnom tkivu bubrega 0,01 µg/kg aflatoksina M1.

Tablica 2: Primjereni izračuni koncentracije aflatoksina M1 u organima i mišićju tovljenika na temelju podataka iz studije na životinjama od Beaver (1990)

Koncentracija u hrani za životinje [µg/kg]	Tkivo			
	Jetra	Bubrezi	Mišićje	Masno tkivo
	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]	Aflatoxin M <sub>1</sub> [µg/kg]
524	1,479	3,132	0,206	0,01
Trajanje hranidbe: 35 dana				
200	0,564	1,195	0,077	0,004
150	0,423	0,897	0,059	0,003
100	0,282	0,597	0,039	0,002
50	0,141	0,298	0,020	0,001

Iz danih rezultata vidljivo je da je prijelaz aflatoksina M1 u mišićno tkivo tovljenika vrlo mali. Treba naglasiti kako je u izračunima utemeljenim na ovom modelu nisu korištene stvarne količine hrane po životinji i danu, već samo duljina hranjenja s porcijama hrane s poznatom potencijalno kontaminiranom komponentom hrane.

## Ovce i koze

Nije poznato niti jedno istraživanje provedeno na ovcama i kozama o količini prijenosa aflatoksina B1 iz hrane u meso i organe ovaca i koza. Kako se radi o preživačima, može se pretpostaviti da bi količina prijenosa bila slična kao kod goveda. Treba naglasiti da se hranidba ovaca i koza razlikuje od hranidbe goveda s obzirom na udio kukuruza u krmnim smjesama i korištenje silaže u hranidbi, koji su manji nego kod goveda. Stoga se može zaključiti kako će očekivani prijenos aflatoksina B1 u meso i organe biti još manji.

## ZAKLJUČCI

Uzimajući u obzir podatke raspoloživih relevantnih istraživanja te podatke o NDK vrijednostima za hranu za koju su one definirane, a u odnosu na učestalost konzumacije navedenih vrsta mesa za koje je traženo mišljenje, može se zaključiti:

- stupanj prijenosa u aflatoksina B1 (M1) u meso manje je značajan nego stupanj prijenosa u mlijeko
- prijelaz aflatoksina M1 u mišićno tkivo goveda vrlo je mali. Budući da niti jedna koncentracija aflatoksina M1 dobivena iz istraživanja nije dovela do povećanja ovog kontaminanta iznad maksimalno dozvoljene koncentracije u odnosu na vrijednosti propisane čak i za mlijeko, rizik za zdravlje potrošača prilikom konzumiranja takvog goveđeg mesa je zanemarivo mali
- prijelaz aflatoksina M1 u mišićno tkivo tovljenika vrlo mali te je rizik za zdravlje potrošača prilikom konzumiranja takvog mesa je mali
- količina prijenosa aflatoksina u meso ovaca i koza može se smatrati jednakom kao i za goveda. Međutim, kako je konzumacija ovčjeg mesa (janjad, ovce) u RH manja od konzumacije junetine, a konzumacija kozjeg mesa još manja, rizik za zdravlje potrošača prilikom konzumiranja ovih vrsta mesa je zanemarivo mali.
- dva tjedna nakon prestanka hranjenja životinja s kontaminiranom hranom, aflatoksin se više ne nalazi u tkivu.

## PREPORUKE

S obzirom na eksperimentalno dobivene vrijednosti za aflatoksin M1 u mesu goveda i svinja, te uzimajući u obzir razinu rizika, NDK vrijednost za ove vrste mesa mogao bi biti 2 µg/kg, isti kao i za žitarice i proizvode od žitarica, uključujući prerađene proizvode na bazi žitarica, sukladno Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/12) uz napomenu da se ta vrijednost za meso koristi i u Republici Njemačkoj, sukladno njihovoj nacionalnoj legislativi (Kontaminanten-Verordnung-KmHvom 19. März 2010 (BGBl. I.S.287), geändert durch Art. 1 V v. 9.8.2012 I 1710)

## LITERATURA (REFERENCE)

**Bauer, J.** (2000): Mykotoxine in Futtermitteln: Einfluss auf Gesundheit und Leistung. In: Hand-buch der tierischen Veredlung, 25. Aufl., Osnabrück, Kammlage-Verlag, 169-192.

**Beaver, R., Wilson, D., James, M., Haydon, K., Colvin, B., Sangster, L., Pikul, A., Groopman, J.** (1990) Distribution of aflatoxins in tissues of growing pigs fed an aflatoxin-contaminated diet amended with a high affinity aluminosilicate sorbent., *Veterinary and human toxicology* 32(1)16-18.

**BfR** (2013): Übergang von Aflatoxinen in Milch, Eier, Fleisch und Innereien Stellungnahme des BfR Nr. 009/2013 vom 4. März 2013.

**EC** (European Commission, 2004): Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. Request No. EFSA-Q-2003-035. *The EFSA Journal* 39, 1-27.

**Kontaminanten-Verordnung-KmHvom** 19. März 2010 (BGBl. I.S.287), geändert durch Art. 1 V v. 9.8.2012 I 1710.

**Miller, D.M., Wilson, D.M.** (1994): Veterinary diseases related to aflatoxins. In: Eaton DL, Groopman JD (eds) *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. Academic Press. NY, 347-364.

**Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani** (NN 146/12)

**Pravilnik o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje** (NN 80/10)

**Richard, J., Pier, A., Stubblefield, R., Shotwell, O. Lyon, R., Cutlip, R.** (1983) Effect of feeding corn naturally contaminated with aflatoxin on feed efficiency, on physiologic, immunologic, and pathologic changes, and on tissue residues in steers. *American Journal of Veterinary Research* 44(7):1294-1299.

## PRORAČUN PRIJENOSA AFLATOKSINA M1 U MESO TOVNIH GOVEDA I SVINJA

Nastavno na Znanstveno izvješće o pretpostavljenim koncentracijama aflatoksina M1 u mesu goveda, svinja, ovaca i koza, od 22. ožujka 2013. Hrvatska agencija za hranu zaprimila je od Ministarstva poljoprivrede dodatne podatke koji se odnose na nalaze aflatoksina B1 u kukuruzu i smjesama korištenima za ishranu mliječnih krava u periodu od 19. veljače do 05. ožujka 2013. godine te aflatoksina M1 u mlijeku tijekom ožujka 2013. godine, temeljem kojih je bilo potrebno izraditi proračun prijenosa aflatoksina M1 u meso tovnih goveda i svinja.

### NAČIN IZRADE PRORAČUNA

Temeljem podatka Njemačkog instituta za procjenu rizika (BfR) o kontaminaciji kukuruza koji je korišten kao hrana za životinje, pri čemu je ustanovljena koncentracija aflatoksina B1 od 200 µg/kg u kukuruzu uvezenom iz Srbije u Njemačku, te eksperimentalnih studija na životinjama koje su opisane u znanstvenim radovima, napravljena je linearna ekstrapolacija očekivane količine aflatoksina M1 u mišićnom tkivu i organima goveda i svinja.

Procjena temelji se na vrijednostima koje su veće od najvećih dopuštenih količina aflatoksina B1 u hrani za životinje (0,02 mg/kg), i izračunata je na temelju rezultata stvarno utvrđene koncentracije aflatoksina B1 u kukuruzu i smjesama Hrvatskoj .

### STUPANJ PRIJENOSA U MESO

Stupanj prijenosa u aflatoksina B1 (M1) u meso manje je značajan nego stupanj prijenosa u mlijeko. Nakon oralnog unosa iz hrane aflatoksin prvenstveno odlazi u jetru i bubrege, dok je mišićno tkivo kontaminirano s izuzetno malim koncentracijama (jetra/bubreg>>mišićno tkivo).

Uzimajući u obzir da je Pravilnikom o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje, NN 80/2010, propisana najveća dopuštena količina AFB1 za sva krmiva od 0,02 mg/kg, iz tablice je vidljivo da čak ni najviše koncentracije AFB1 u kukuruzu (2,07 mg/kg) i u smjesi (0,05 mg/kg) ne pokazuju prijenos AFM1 u meso koji bi predstavljao rizik za zdravlje, sukladno zaključku koji je dan u Znanstvenom izvješću o pretpostavljenim koncentracijama aflatoksina M1 u mesu goveda, svinja, ovaca i koza.

Najveće koncentracije aflatoksina M1, u odnosu na najviše koncentracije AFB1 u kukuruzu i smjesi iznose 0,2976 µg/kg, odnosno 0,0072 µg/kg.

Izračunate vrijednosti za AFM1 u mesu odnose se na slučaj da se obrok životinje u potpunosti sastoji od kontaminiranog kukuruza. To isto vrijedi i za izračun za smjesu.

Također treba uzeti u obzir činjenicu utvrđenu literaturom da 5 dana nakon prestanka hranjenja životinja hranom kontaminiranom s AFB1, koncentracija AFM1 u mesu je jedva u granicama detekcije.

S obzirom na vremenske uvjete i uvjete pohrane hrane koja je uzorkovana, te vrijeme koje je od tada prošlo, moguće je da je u kukuruzu, smjesama i ostalom došlo do povećanja koncentracije AFB1, što također treba uzeti u obzir prilikom odluke za upotrebu kukuruza, smjesa i ostalog u svrhu hranidbe životinja.